

Licht- und elektronenmikroskopische sowie enzymhistochemische Beobachtungen am Verdauungstrakt winterschlafender Igel (*Erinaceus europaeus*)

VON ARNE HENRIKSEN

Aus dem Anatomischen Institut der Universität Kiel

Direktor: Prof. Dr. W. Bargmann

Eingang des Ms. 5. 5. 1972

I. Einleitung

Im Gegensatz zu anderen Organen, z. B. den endokrinen Drüsen, wurde der Verdauungstrakt der winterschlafenden Säugetiere bisher wenig untersucht. Daher sollen in der vorliegenden Arbeit die strukturellen und histochemisch darstellbaren Veränderungen im Verdauungstrakt mit seinen großen Anhangsdrüsen während des Winterschlafs bei dem in seiner systematischen Stellung primitiven Igel (*Erinaceus europaeus*) bearbeitet werden. Zu diesem Thema liegen folgende neuere Arbeiten vor:

MAYER et al. (1958) berichten in einer lichtmikroskopisch-histologischen Arbeit, daß sich die Drüsenzellen der Magen- und Darmschleimhaut des ground-squirrels sehr inaktiv verhalten. Im Gegensatz dazu beschreibt BANI SACCHI (1966) einerseits im Pankreas des Igels eine Akkumulation von Zymogengranula, andererseits eine Degeneration des Golgiapparates. GEUZE et al. (1969) und GEUZE (1970) beobachteten andererseits bei überwinternden Fröschen im Pankreas eine Abnahme der Granulazahl. Diese unterschiedlichen Angaben gehen u. U. auf unterschiedliche Zeitpunkte des Tötens und die verschiedenen Tierarten zurück. Die vorliegende Arbeit beschränkt sich nicht auf eine Drüse, sondern sie berücksichtigt eine Reihe von wichtigen exokrinen Drüsen des Verdauungstraktes. Die Zellveränderungen, die bei dem Winterschlaf stattfinden, werden sowohl auf Grund struktureller licht- und elektronenmikroskopischer Untersuchungen als auch histochemischer Enzymnachweise beschrieben. Makroskopische Veränderungen der untersuchten Organe werden nicht berücksichtigt. Ebenso werden keine quantitativen Messungen hinsichtlich Zellzahlen und Mitosen angestellt.

II. Material und Methoden

A. Elektronenmikroskopie

Adulte winterschlafende und Sommertiere des europäischen Igels (*Erinaceus europaeus*) wurden in Barbituratnarkose mit 3,5% phosphatgepuffertem Glutaraldehyd (pH 7,4) 30 min lang perfundiert. Nach Spülung mit Phosphatpuffer (pH 7,8) wurden die Gewebe (Speicheldrüsen [Parotis], Magen [Fundus], Pankreas, Dünndarm) herauspräpariert, zerschnitten und über Nacht in einem Phosphatpuffer-Saccharose-Gemisch bei 4°C aufbewahrt. Anschließend wurden die Gewebestücke in 4% OsO₄ für zwei Stunden nachfixiert, über eine Athanolreihe dehydriert und in Araldit eingebettet. Dünnschnitte wurden je fünf Minuten in Uranylacetat (gesättigte Lösung in 70% Methanol) und Bleicitrat (REYNOLDS 1963) kontrastiert. Elektronenmikroskop: Zeiss EM 9 A und Siemens Elmiskop 101.

B. Lichtmikroskopie

Von dem in Araldit eingebetteten Material wurden Dickschnitte (1—2 μ) angefertigt und mit Toluidin-Blau (RICHARDSON et al. 1960) gefärbt.

C. Histochemie

Von anderen adulten winterschlafenden und Sommerigeln wurden nach Dekapitation Gewebestücke des Magen-Darm-Kanals (Speicheldrüsen, Magen [Fundus], Pankreas, Dünndarm) herauspräpariert und in kaltem, neutralem Formol-Calcium für zehn Stunden fixiert, anschließend 24 Stunden lang in einer Gummi-arabicum-Saccharose-Lösung (HOLT 1958) bei 4° C aufbewahrt. 10 μ -dicke Kryostatschnitte wurden für folgende Enzymnachweise inkubiert: saure Phosphatase (BARKA und ANDERSON 1962), alkalische Phosphatase (BURSTONE 1958), α -Naphthylacetat-Esterase (BARKA und ANDERSON 1963), 4-chloro-5-bromo-Indoxylacetat-Esterase (HOLT 1958), Acetylcholin-Esterase (GOMORI 1952), Leucinamino-Peptidase (BURSTONE und FOLK 1956), β -Glucosaminidase (PUGH und WALKER 1958).

III. Befunde

A. Lichtmikroskopie (Richardson-Schnitte)

Die lichtmikroskopisch erkennbaren Unterschiede zwischen Sommer- und Wintertieren sind in den einzelnen Organen unterschiedlich groß.

1. Parotis (Abb. 1)

In den Endstücken von Wintertieren ist im Gegensatz zu denen von Sommertieren fast immer ein Lumen erkennbar. Ferner treten die Zellgrenzen der Azinuszellen im Winter sehr deutlich hervor. Die Granula der Azinuszellen sind im Winter gleichmäßig dunkel gefärbt und füllen das Zytoplasma weitgehend aus. Im Sommer treten hellere und dunklere Granula auf; ihre Zahl ist geringer als im Winter. Die Zellkerne von Wintertieren sind in den Parotisendstücken deutlich heller.

Die intralobulären Ausführgänge enthalten stets Schleimeinschlüsse und zeigen konstante jahreszeitliche Unterschiede. Die Epithelzellen sind im Sommer höher, enthalten mehr Schleimeinschlüsse, und ihr Kern ist kleiner und heterochromatinreicher als im Winter.

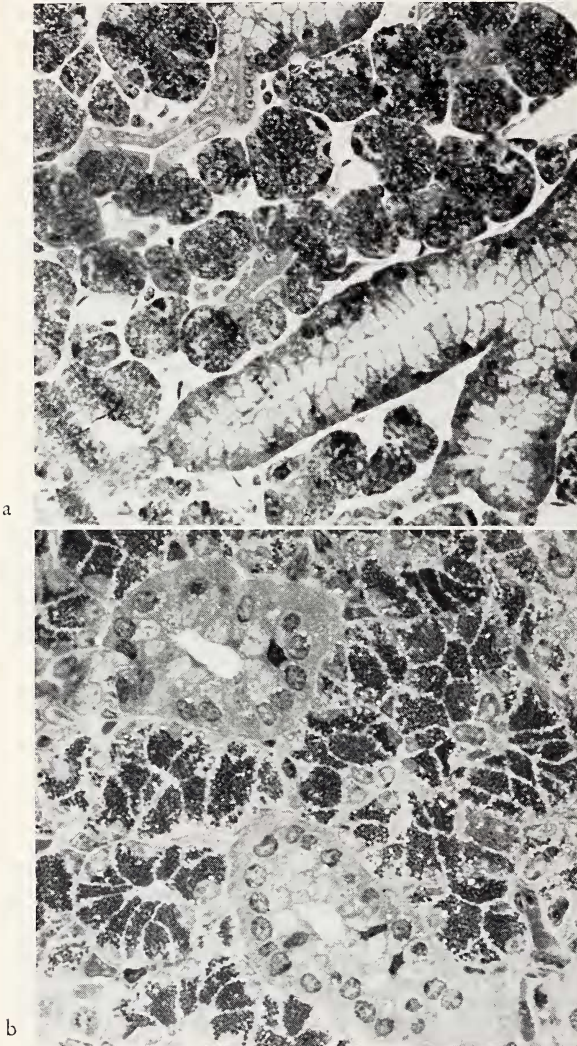


Abb. 1 a und b. Parotis, Igel — a = Sommertier, b = Wintertier — Beachte das unterschiedlich hohe Epithel der verschleimten intralobulären Ausführgänge und die dicht gepackten Granula in den Azinuszellen im Winter. Toluidinblau (x 480)

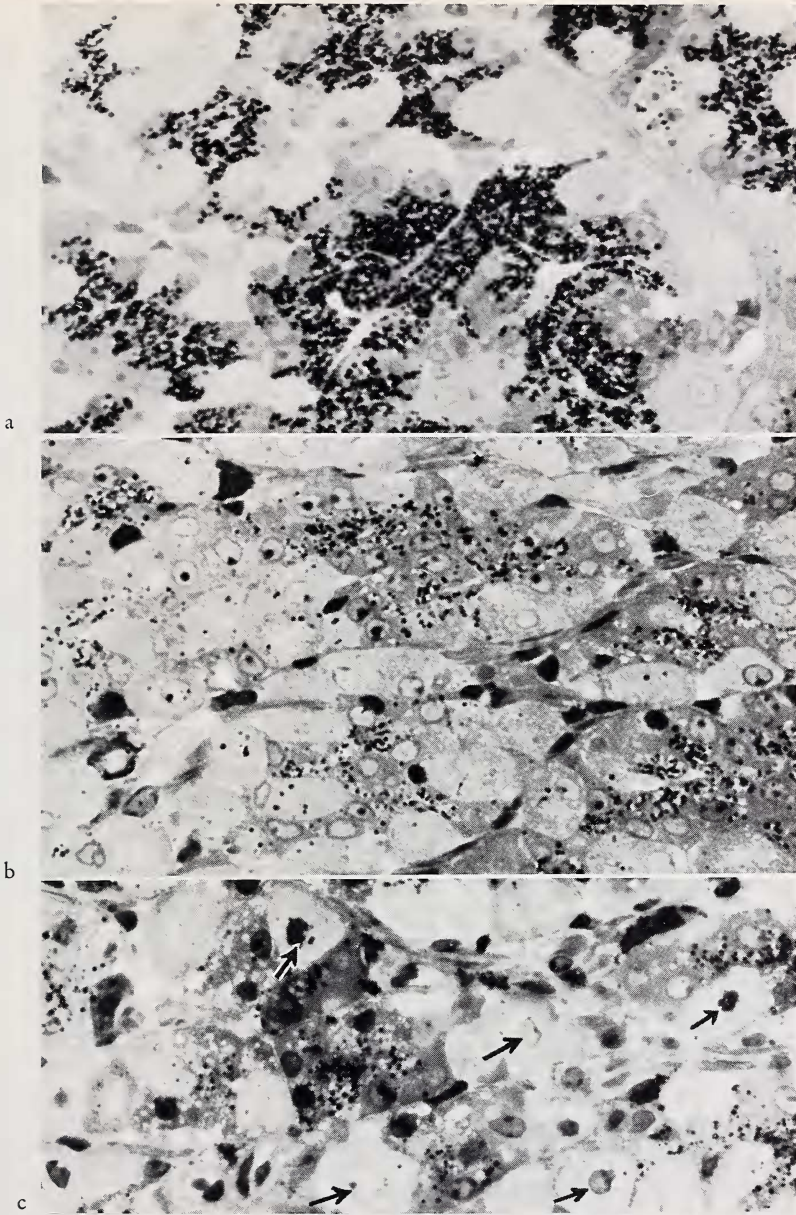


Abb. 2 a—c. Fundusdrüsen, Magen, Igel — a = Sommertier, b, c = Wintertier — Beachte die stark herabgesetzte Zahl an Zymogengranula in den Hauptzellen im Winter (b) und die unterschiedlich strukturierten Kerne mit den Belegzellen von Winterigeln (Pfeile) (c). Toluidinblau (x 650)

Während unizelluläre Fettzellen im interlobulären Bindegewebe sowohl im Sommer als auch im Winter auftreten, erscheinen im Winter zusätzlich intralobuläre fett-haltige Zellen in unmittelbarer Nachbarschaft der Azini.

2. Magenfundus

Der Gesamtaufbau der Fundusdrüsen erscheint bei Sommer- und Wintertieren gleich. Auffallend verschieden verhalten sich jedoch die Hauptzellen. Diese verlieren nämlich zu einem großen Teil im Winter ihre Granula (Abb. 2 a, b). Die Granula selbst

sind im Sommer homogen; im Winter zeigen sie oft eine helle Peripherie. Die Zellkerne sind im Sommer dichter und meist auf die Zellbasis beschränkt; im Winter sind sie heller und in ihrer Lage nicht so fixiert.

Die Belegzellen sind im Winter durchgehend schmaler und länglicher als im Sommer, wo sie rundlichere Gestalt besitzen. Das Zytoplasma erscheint im Winter wabig strukturiert, im Sommer erscheint es gleichförmig. Die Mehrzahl der Belegzellen besitzt im Winter große helle Kerne mit deutlichem Nucleolus und sehr wenig Heterochromatin. Diese Kerne sind deutlich heller als die Kerne der Belegzellen von Sommertieren. Doch wurden mehrfach im Winter Belegzellen beobachtet, deren Kern geschrumpft und homogen dunkel erscheint (Abb. 2 c); er wird dann meist von einer noch dunkleren peripheren Zone begrenzt.

Das hochprismatische Oberflächenepithel des Magens der Sommerigel enthält helles Zytoplasma und chromatinarme Kerne. Apikal treten unterschiedlich große, deutlich begrenzte Granula auf, deren Menge in den einzelnen Zellen wechselt. Die Höhe dieses Epithels erscheint im Winter unverändert. Es treten aber apikal größere Mengen an granulären Einschlüssen als im Sommer auf, die oft eine

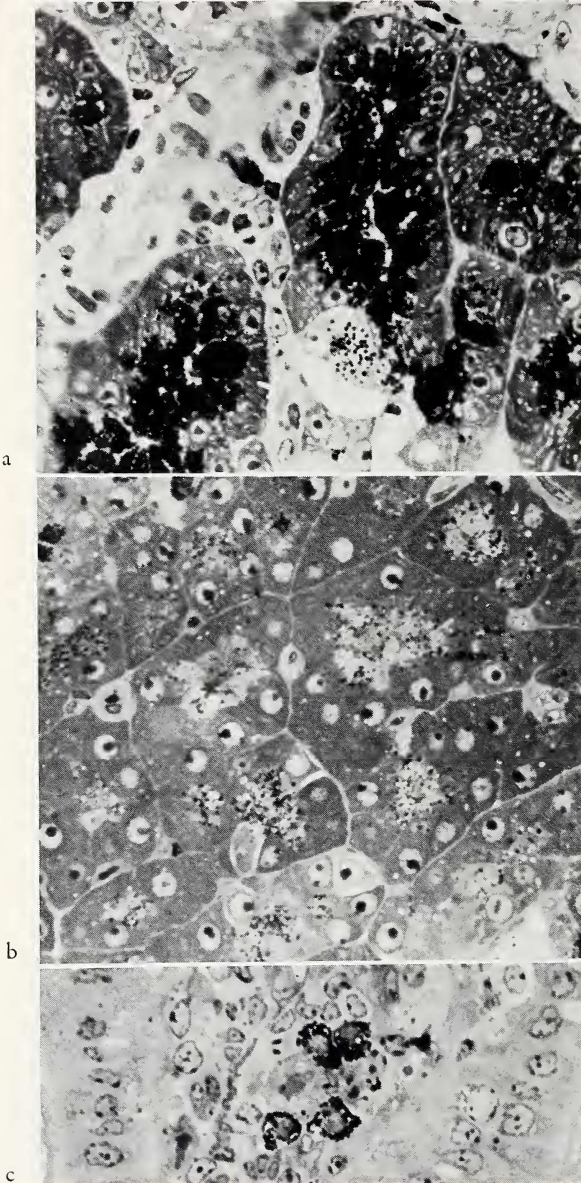


Abb. 3 a—c. a—b: Pankreas, Azini, Igel — a = Sommertier, b = Wintertier — Beachte die unterschiedliche Granulamenge in den Azinuszellen und den großen Nucleolus im Winter — c = Dünndarmzotte mit Mastzellen, Wintertier. Toluidinblau (x 650)

undeutlich begrenzte Masse bilden, in der nur einzelne kleine dunkle Punkte hervortreten.

Die Struktur der Nebenzellen zeigt kaum jahreszeitliche Unterschiede, abgesehen von einer leichten Verminderung der Zahl der apikalen Granula im Winter.

In der Lamina propria der Mucosa treten im Winter große, mit dunkelbraunen Pigmentkörnchen beladene Zellen auf, die entweder abgerundet sind oder einige breite Ausläufer besitzen.

3. Exokrines Pankreas

Das Gesamtbild des Pankreas, das gut ausgebildete Azini besitzt, verändert sich im Laufe der Jahreszeiten nicht. Das Lumen der Endstücke ist aber im Winter im Gegensatz zu dem von Sommertieren oft gut erkennbar, d. h. relativ weit. Der Granulagehalt der Azinuszellen ist im Winter in sehr vielen Endstücken stark herabgesetzt (Abb. 3 a, b), doch treten im Zytoplasma öfter helle Vakuolen auf. Die Kerne der Azinuszellen sind im Winter wieder recht chromatinarm.

4. Dünndarm

Die Saumzellen und die Becherzellen zeigen bei Sommer- und Wintertieren keine eindeutigen Unterschiede. Ebenso fand MONTI (1903) keine Veränderung der Zahl und Struktur der Becherzellen winterschlafender Murmeltiere. Die Panethschen Körnerzellen am Grunde der Dünndarmkrypten sind im Sommer apikal zur Hälfte oder zu einem Drittel mit hell erscheinenden Sekretionsgranula angefüllt. Ihr Zytoplasma ist dunkler als das der umliegenden Epithelzellen. Die Panethschen Körnerzellen zeigen im Winter nur geringe Veränderungen, oft ist die Zahl der apikalen Granula etwas herabgesetzt.

In Übereinstimmung mit den Angaben CORTIS (1907) wurden im Darmepithel von Winterigeln reichlich Lymphozyten festgestellt. Auffallend ist bei den Wintertieren die sehr große Zahl von Mastzellen (Abb. 3 c) und die zahlreichen Fetteinschlüsse in vielen Bindegewebszellen in der Lamina propria.

B. Elektronenmikroskopie

1. Parotis

a. Seröse Drüsenzellen

Auffallendstes Kennzeichen der Endstückzellen sind die Sekretionsgranula, die bei Sommertieren homogen strukturiert und ungefähr gleich groß sind. Bei Wintertieren liegt der Durchmesser der Granula oft im Bereich von 10000 Å, ihr Inhalt ist deutlich elektronendichter. Viele von ihnen sind durch eigentümliche konzentrische, ringförmige Aufhellungen ausgezeichnet (Abb. 4). In einer Reihe von Granula treten zusätzlich feine, regelmäßig angeordnete Substrukturen auf (Abb. 4). Diese liegen immer am Rande der Granula und bestehen aus parallel angeordneten Lamellen, zwischen denen Lagen punktförmiger elektronendichter Strukturen vorkommen. Sowohl bei Sommer- als auch bei Wintertieren ist das rauhe endoplasmatische Retikulum gut entwickelt. Freie Ribosomen sind im Winter zahlreicher als im Sommer vorhanden. Golgiapparat und Mitochondrien zeigen in ihrem Verhalten keine deutlichen Unterschiede zwischen Sommer- und Wintertieren.

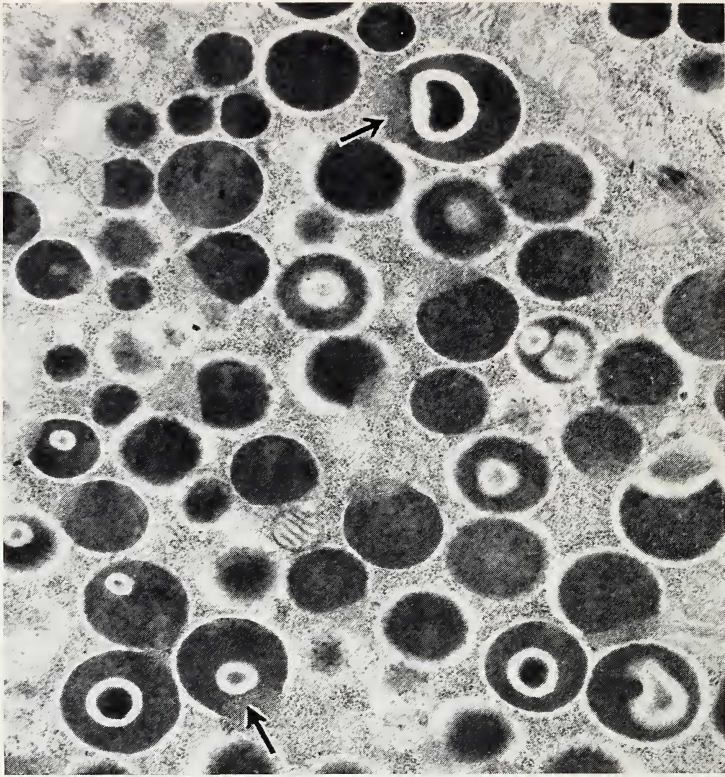


Abb. 4. Parotis, Igel, Winter. Azinuszelle mit unterschiedlich gestalteten Granula. Pfeile deuten auf periphere Substrukturen. ($\times 18\,000$)

b. Die intralobulären Gangzellen

Die intralobulären Gangzellen, die sich an ein kurzes Schaltstück anschließen, enthalten im Sommer sehr viel größere Mengen an hellen mukösen Einschlüssen als im Winter (Abb. 5 a, b). Diese sind im Sommer unregelmäßig gestaltet (oft annähernd oval) und von unterschiedlicher Größe (oft im Bereich von $8\,000$ – $10\,000$ Å). Sie sind von einer Membran umgeben, ihr Inhalt ist feinkörnig und homogen verteilt. Die einzelnen Granula verschmelzen im Zellapex. Im Winter sind diese Granula deutlich kleiner (Durchmesser $4\,000$ Å) und einheitlicher gestaltet. Ihr Inhalt ist oft noch heller als im Sommer, und die feinkörnige Substruktur ist nur undeutlich zu erkennen. Die übrigen Zellorganellen zeigen wenig Veränderungen. Die Gangzellen sind im Winter niedriger als im Sommer.

2. Magen-Fundusdrüsen

a. Hauptzellen

Diese Zellen sind im Sommer durch den Gehalt an zahlreichen v. a. apikal gelagerten Granula (Durchmesser $14\,000$ Å) und durch basales, gut entwickeltes rauhes endoplasmatisches Retikulum gekennzeichnet. Der Golgiapparat ist im Sommer umfangreicher als im Winter. Die Hauptzellen ähneln den exokrinen Pankreaszellen

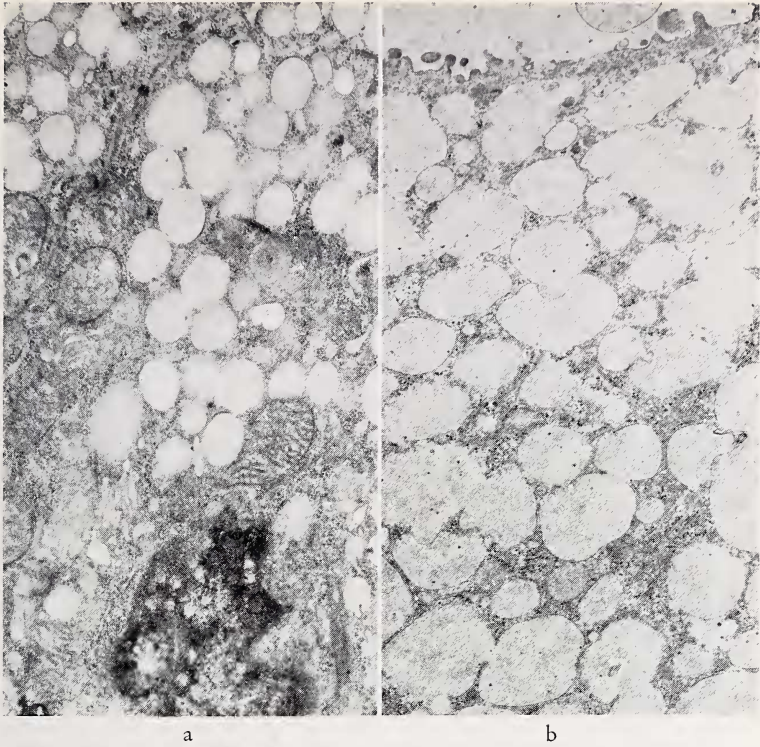


Abb. 5 a und b. Parotis, Igel, obere Zelhälfte von Epithelzellen in verschleimten intralobulären Ausführungsgängen — a = Wintertier, b = Sommertier — Beachte die unterschiedlich gestalteten Schleimeinschlüsse. (x 20 000)

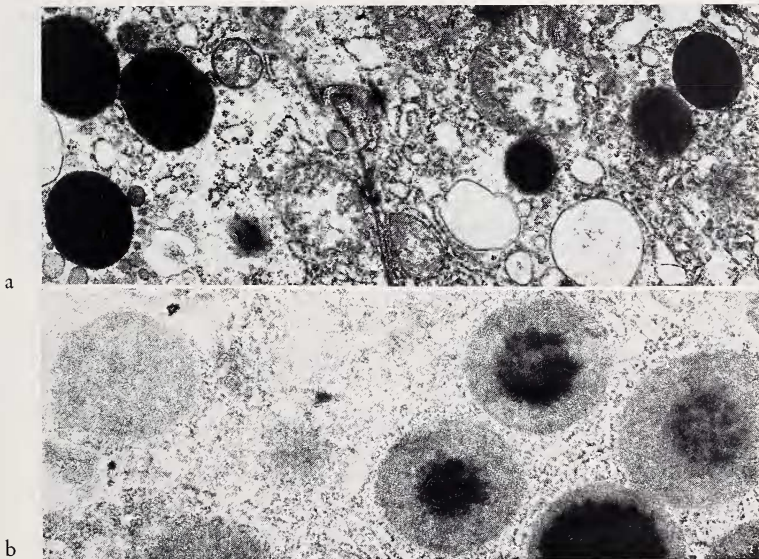


Abb. 6 a und b. Magen, Hauptzellen, Igel — a = Wintertier, b = Sommertier — Beachte die unterschiedliche Größe und Strukturierung der Zymogengranula. (x 18 000)

(HELANDER 1962). Bei Wintertieren fällt auf, daß die Granulazahl in den einzelnen Hauptzellen stark variiert; oft enthalten die Zellen nur wenige bis sehr wenige Granula (Abb. 6 a, b). Auch die Struktur der Granula zeigt Unterschiede: Bei Wintertieren erscheinen sie gleichmäßig elektronendicht (Durchmesser 7000 Å), bei Sommertieren dagegen sind sie unterschiedlich dicht und vor allem heller (Abb. 7); einzelne Granula besitzen dunkle Zentren. Das rauhe endoplasmatische Retikulum ist bei Sommertieren in größerem Umfang vorhanden als bei Wintertieren, bei denen es nur in einzelnen, allerdings normal strukturierten Zisternen vorkommt. Der Villisaum an der Oberfläche der Zellen ist bei Sommer- und Wintertieren ähnlich ausgebildet; er besteht aus kurzen, plumpen und in lockerem Abstand zueinander stehenden Mikrovilli. Die Kerne der Hauptzellen sind bei Sommertieren oft mit tiefen Einkerbungen versehen und enthalten stets einen großen Nucleolus. Diese Kennzeichen sind bei Wintertieren nur schwach ausgebildet.

b. Belegzellen

Die Canaliculi der Belegzellen sind bei Sommertieren weiter als bei Wintertieren. Ihre Mikrovilli erscheinen bei Wintertieren relativ dick und stehen dicht beieinander, bei Sommertieren sind die Mikrovilli schmaler und weniger dichtstehend. Im Zytoplasma sind bei Sommer- und Wintertieren zahlreiche Mitochondrien gleichmäßig verstreut. Sie ähneln einander hinsichtlich Zahl und Struktur im Sommer und Winter stark. Im Zytoplasma — besonders in der Nähe der Canaliculi — sind viele helle, kleine Bläschen zu sehen, bei Sommertieren in deutlich größerer Zahl als bei Wintertieren. Das rauhe endoplasmatische Retikulum ist bei Sommer- und Wintertieren wenig entwickelt und zeigt keinen deutlichen Unterschied. Der Golgiapparat liegt in Kernnähe, ist wenig entwickelt und zeigt bei Sommer- und Wintertieren keine deutlichen Unterschiede. Bei Wintertieren lassen sich mehr Lysosomen und freie Ribosomen als bei Sommertieren feststellen. Die Kerne sind bei Sommertieren relativ hell, Heterochromatin lagert insbesondere in der Kernperipherie. Bei Wintertieren wurden wie mit dem Lichtmikroskop zwei Kerntypen gefunden: 1. dunkle, heterochromatinhaltige Kerne und 2. helle Kerne. Bei diesen ist im Gegensatz zu den Sommertieren die Menge des Heterochromatins oft noch vermindert, der Nucleolus scheint infolge einer Auflockerung seines Nucleolonemas im Winter eher größer als im Sommer.

c. Nebenzellen

Diese Zellen sind bei Sommertieren häufiger anzutreffen als bei Wintertieren, sie zeigen jedoch keine eindeutigen strukturellen Unterschiede. Indessen sind bei Sommertieren Mitosefiguren viel häufiger zu beobachten als bei Wintertieren.

d. Lamina propria

In der Lamina propria sind bei Sommer- und Wintertieren große Mengen an Nervenfasern und -endigungen zu beobachten. Die Nervenendigungen zeigen hinsichtlich ihres Gehaltes an synaptischen Bläschen keine Unterschiede in den verschiedenen Jahreszeiten.

3. Exokrines Pankreas

a. Drüsenzellen (Abb. 7 a, b)

Das Zytoplasma dieser Zellen erscheint bei Sommertieren einheitlich dicht und besitzt ein reich entwickeltes rauhes endoplasmatisches Retikulum mit eng gelagerten

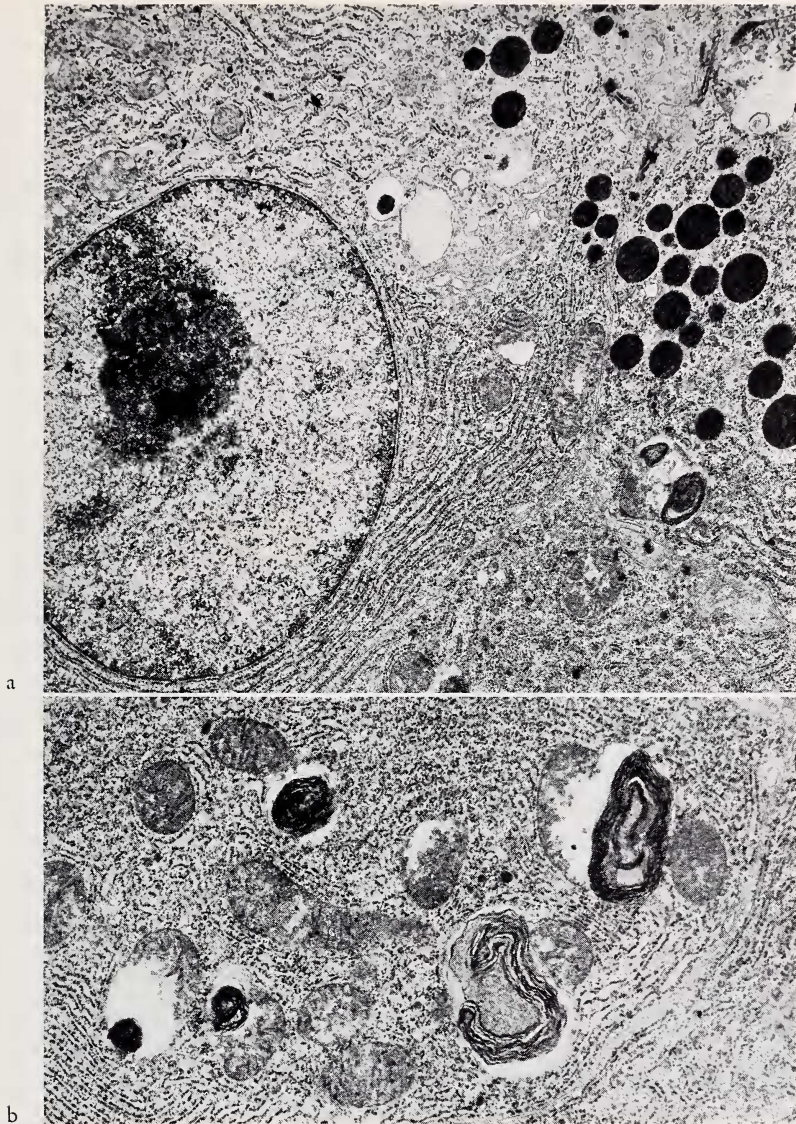


Abb. 7 a und b. Pankreas, Azinuszellen, Igel, Winter. Beachte die geringe Anzahl an Zymogengranula (a), den gut entwickelten Nucleolus (a) und die Myelinfiguren in zahlreichen Mitochondrien (b). (x 15 000)

und parallel angeordneten Membranen und zahlreiche elektronendichte Granula. Bei Wintertieren weisen zahlreiche Azinuszellen dagegen einzelne, sehr stark erweiterte Ergastoplasma-Zisternen auf, doch erscheint die Menge an rauhen E. R. kaum reduziert. Der Golgiapparat ist bei Sommertieren durch Vermehrung und zum Teil bläschenförmige Erweiterung der Zisternen größer als bei Wintertieren. Die bei Sommertieren vorwiegend apikal lokalisierten Granula nehmen im Winter an Zahl deutlich ab. Im Winter sind die Granula außerdem kleiner und homogen strukturiert, im Sommer sind sie vereinzelt mit einem dichten Zentrum und einer hellen „Rinde“

versehen. In marginalen Zisternenabschnitten lagert nur im Sommer öfter elektronendichtes Material. Die Mitochondrienzahl – (Crista-Typ) – nimmt im Winter deutlich ab. Bei Wintertieren treten sehr oft unregelmäßig gestaltete Mitochondrien auf, die zum Teil kristalline Einschlüsse aufweisen. Die parallel angeordneten Lamellen dieser Kristalle sind nicht einheitlich angeordnet, sondern sie bilden Schichten, die in verschiedenem Winkel zueinander liegen. Zahlreiche Mitochondrien enthalten Myelinfiguren (Abb. 7). Auffallend sind umfangreiche Abbaukörper bei den Wintertieren. Es handelt sich hierbei um membranbegrenzte Einschlüsse, die Endstadien sekundärer Lysosomen (Residualkörper, NOVIKOFF und HOLTZMANN 1971) entsprechen. Die hellen großen Kerne besitzen bei Sommertieren einen größeren Nucleolus als bei Wintertieren.

4. Dünndarm

a. Resorbierendes Epithel

Dieses Epithel besteht bei Sommertieren aus gleichförmig gebauten Zellen, die einer Basalmembran aufliegen. Die Zellen sind sehr hoch, relativ schmal und besitzen einen gleichmäßig hohen und dichten Mikrovillisaum. Eine helle Zone (s. u.) unter den Villi fehlt. Diese Zellen sind bei Wintertieren etwas niedriger. Ihr Mikrovillisaum ist in seinem regelmäßigen Aufbau öfter verändert; die Mikrovilli sind dann ungleichmäßig hoch, und zwischen ihnen können Abschnitte mit glatter Zelloberfläche auftreten. Regelmäßig ist unter den Mikrovilli bei Wintertieren eine mehr oder weniger breite helle Zone vorhanden; sie fehlt bei Sommertieren. Das apikale Zytoplasma enthält bei Wintertieren nur wenige kleine Bläschen, während sie bei Sommertieren sehr viel zahlreicher vorkommen. Die Mitochondrien – meist länglich gestaltet und vom Crista-Typ – sind zu beiden Jahreszeiten ober- und vor allem unterhalb des Zellkerns lokalisiert, sind aber bei Sommertieren zahlreicher als bei Wintertieren. Ihre Gestalt ist im Winter oft rundlich, wie es auch in den Zellen des Fettkörpers von hungernden Insekten beschrieben wurde (WIGGLESWORTH 1967). Rauhes Ergastoplasma ist sowohl bei Sommer- als auch bei Wintertieren gut entwickelt, doch sind bei Wintertieren in seinem Verlauf einzelne weitere Zisternen ausgebildet. Freie Ribosomen sind im Sommer zahlreicher als im Winter. Lysosomen sind ebenfalls bei Sommertieren zahlreicher vertreten. Nur bei Sommertieren treten Glykogen und helle Fetteinschlüsse auf. Die Kerne sind bei Sommertieren länglich geformt und besitzen ein dichtes Chromatinnetz mit gut entwickeltem Nucleolus. Bei Wintertieren sind dagegen die Kerne rundlich, der Umfang ihrer Nucleoli ist vermindert.

b. Lamina propria

α. Mastzellen

Die im Winter in der Lamina propria vermehrt auftretenden Mastzellen zeigen im Vergleich zum Sommer eine leicht vermehrte Granulazahl, ein umfangreiches Golgifeld und ein ausgedehntes Ergastoplasma.

β. Eosinophile Granulozyten

Noch auffallender als bei den Mastzellen ist die Zunahme an Eosinophilen in der Lamina propria bei Wintertieren. Die Granula sind im Sommer und Winter ähnlich strukturiert (z. T. mit kristalloider Substruktur), doch treten im Winter vereinzelt ungewöhnlich große Granula auf (Abb. 8a). Einzelne Eosinophile von Winterigeln enthalten Fetteinschlüsse.

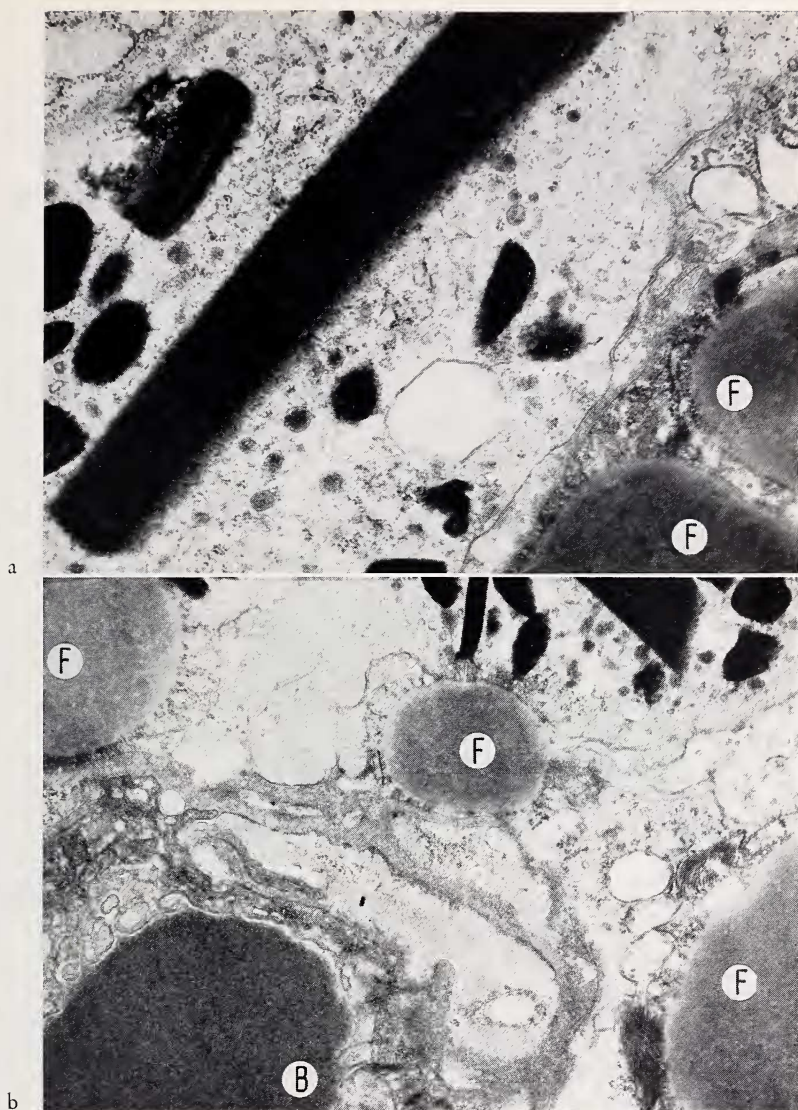


Abb. 8 a und b. Dünndarm, Lamina propria, Igel, Winter — a = Eosinophile — Beachte das ungewöhnlich große stabförmige Granulum. In Nachbarzellen Fetteinschlüsse (F), b = Fett (F) in perikapillären Zellen der Lamina propria. B = Blutgefäß (x 18 000)

γ. Plasmazellen

Die Plasmazellen der Wintertiere zeigen stark aktivierte Zisternen des rauhen endoplasmatischen Retikulums, die dicht mit feingranulärem Material angefüllt sind oder rundliche, sehr elektronendichte Einschlüsse enthalten (Abb. 9 a, b).

δ. Zellen mit Fetteinschlüssen (Abb. 8 b)

Fetthaltige Zellen treten im Winter in der Lamina propria sehr zahlreich auf. Es handelt sich um Reticulumzellen, Eosinophile und Fibrozyten. Die Fetteinschlüsse sind im allgemeinen groß und hell (gesättigte Fettsäuren).

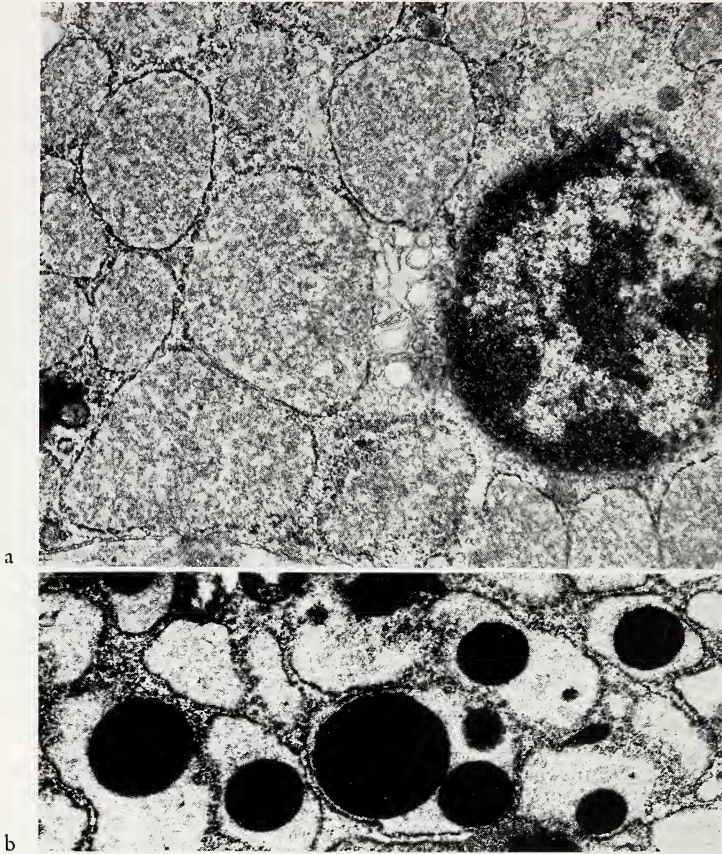


Abb. 9 a und b. Dünndarm, Lamina propria, Plasmazellen, Igel, Winter — b = aktivierte Plasmazelle mit granulärem Inhalt in stark erweiterten E.R. Zisternen, a = aktivierte Plasmazelle mit elektronendichten Einschlüssen in den E.R. Zisternen (x 18 000)

c. Histochemie

Im folgenden sind tabellarisch die enzymhistochemischen Befunde zusammengestellt, die an verschiedenen Organen des Verdauungstraktes von Sommer- und Winterigeln gewonnen wurden. Für die Reaktionsstärke wurden folgende Symbole verwendet:

stark: ++++ schwach: ++ fehlend: ○
 mäßig stark: +++ sehr schwach: +

	Sommer	Winter
1. <i>Alkalische Phosphatase</i>		
Inkubationszeit 40 min, pH 8,5		
α. <i>Parotis</i>		
Im Epithel des Gangsystems	++	○ oder +
β. <i>Magen</i>		
Oberflächenepithel und obere Drüsenhälfte	+++	+
γ. <i>Pankreas (exokrines)</i>		
Im Gangsystem	+++	++
δ. <i>Dünndarm</i>		
(resorbierendes Epithel)		
Bürstensaum der Epithelzellen	+++	++
Krypten	+	○

	Sommer	Winter
2. <i>Saure Phosphatase</i>		
Inkubationszeit 30 min, pH 4,5		
a. <i>Parotis</i>		
Drüsenzellen	++	+
Intralobuläre Gänge	+++	+++
β. <i>Magen</i>		
Oberflächenepithel	+++	++
Makrophagen in der Lamina propria	++++	+++
γ. <i>Pankreas (exokrines)</i>		
Azini	+++	++
Ganglienzellen	+++	+++
δ. <i>Dünndarm</i>		
Resorbierendes Epithel und obere Drüsenhälfte	+++	+
untere Drüsenhälfte (Krypten)	++	++
3. <i>β-Glucosaminidase</i>		
Inkubationszeit 40 min, pH 4,6		
Ähnlich wie saure Phosphatase		
4. <i>α-Naphthylacetat-Esterase</i>		
Inkubationszeit 10 min, pH 6,5		
a. <i>Parotis</i>		
Drüsenzellen	serös: +++ mukös: ++	++ bis + +
β. <i>Magen</i>		
Oberflächenepithel und Foveolae	+++	+++
Drüsen	++	+
γ. <i>Pankreas (exokrines)</i>		
Apikal in den Azini	+++	+++
δ. <i>Dünndarm</i>		
Resorbierendes Epithel	+++	++
Obere Kryptenhälfte	++	+
Untere Kryptenhälfte	○ oder +	○
5. <i>Indoxylacetat-Esterase</i>		
Inkubationszeit 30 min, pH 7,4		
Ähnlich wie α-Naphthylacetat-Esterase, aber stets schwächere Reaktion		
6. <i>Leucinaminopeptidase</i>		
Inkubationszeit 30 min, pH 5,6		
a. <i>Parotis</i>		
Drüsenzellen	++	○
Epithel der Ausführungsgänge	++++	+++
β. <i>Magen</i>		
Oberflächenepithel und obere Drüsenhälfte	+++	++
Untere Drüsenhälfte	++	○
γ. <i>Pankreas (exokrines)</i>		
Apikal in den Azini	+++	++
δ. <i>Dünndarm</i>		
Resorbierendes Epithel	++++	+++
Krypten	+++	+
7. <i>Cholinesterase</i> (in den Nerven AchE, sonst BuChE):		
Inkubationszeit 60 min, pH 6		
a. <i>Parotis</i>		
Drüsenzellen	+	○
Nerven	++	++
β. <i>Magen</i>		
Hauptzellen (Zytoplasma)	+++	○
Endokrine Zellen	+++	○
Nerven	+++	++
γ. <i>Pankreas (exokrines)</i>		
Azini	+++	++
δ. <i>Dünndarm</i>		
Resorbierendes Epithel und Drüsenepithel	++	+
Nerven	+++	++
Becherzellen	+++	++

IV. Diskussion

Bei einem Vergleich von Sommer- und Winterigeln fällt vor allem auf, daß sich 1. die untersuchten Gewebe im ultrastrukturellen Bereich im Winter nur geringfügig verändern und 2. daß die beobachteten Unterschiede in den einzelnen Organen keine einheitliche Richtung der Veränderung erkennen lassen. So nimmt z. B. in den Speicheldrüsen die Zahl der Granula zu, während sie in den Azinuszellen des Pankreas und in den Hauptzellen des Magens deutlich abnimmt. Auch die Veränderungen im Enzymgehalt sind mitunter nur relativ schwach ausgebildet, meist jedoch deutlicher als im feinstrukturellen Bereich. Beispielsweise nimmt die Esteraseaktivität (α -Naphthylacetat- und Indoxylacetat-Esterase) in vielen Organen im Winter leicht ab, während das Ergastoplasma an Umfang unverändert erscheint und gelegentlich sogar besser entwickelt ist als im Sommer. Ferner erscheint das elektronenmikroskopische Bild der Lysosomen und des Golgiapparates hinsichtlich Zahl bzw. Umfang und Struktur unverändert, während die saure Phosphatase im Winter stärker abgenommen hat. Interessant ist die Feststellung, daß trotz Vermehrung der Abbaukörper im Winter z. B. im exokrinen Pankreas die saure Phosphatase nicht entsprechend zunimmt. Diese Beobachtung ist ein Hinweis darauf, daß die saure Phosphataseaktivität in einer Zelle nicht nur in Hinsicht auf die lysosomale Funktion gesehen werden kann, sondern auch im Hinblick auf Synthesevorgänge (SMITH 1963; SMITH und FARQUHAR 1966; LAZARUS, VOLK und BARDEN 1965). Andererseits bemerken NOVIKOFF und HOLTZMANN (1971), daß funktionelle Endstadien sekundärer Lysosomen wenig saure Phosphatase enthalten; außerdem könne unter pathologischen Bedingungen die saure Phosphatase in den Lysosomen fehlen.

Sehr interessant erscheint das Verhalten der Kerne in den Zellen der untersuchten Gewebe, das im Vergleich zum Sommer im Winter oft verändert ist. Im Winter sind die Kerne verhältnismäßig selten dunkler als im Sommer (Kerne vieler Belegzellen der Fundusdrüsen); sie sind dann außerdem meist geschrumpft. Diese Veränderung ist wahrscheinlich Ausdruck einer Degeneration. Viel häufiger dagegen (Parotis: Azinuszellen; Magen: Haupt- und viele Belegzellen; Pankreas: Azinuszellen) sind die Kerne im Winter heller als im Sommer. Diese Beobachtung machte bereits KATER (1927) an verschiedenen Geweben überwinterner Frösche, ohne sie deuten zu können. Auch in unserem Falle ist eine Deutung dieser Aufhellung — die nach elektronenmikroskopischen Befunden von einer Verminderung des Heterochromatins und einer Auflockerung des Nucleolonemas begleitet wird — schwer zu geben, da Euchromatin meist als Ausdruck erhöhter Genaktivität angesehen wird (FAWCETT 1966), der aber im vorliegenden Material meist keine Aktivitätszunahme der Organellen des Zytoplasmas entspricht. Unter Umständen bringen chemische Bestimmungen des Nucleinsäure- und Proteingehaltes der Kerne eine Lösung dieses Problems.

1. Parotis

Die Drüsenzellen der Parotis zeigen in den verschiedenen Jahreszeiten vor allem Unterschiede der Granula, die im Winter eindeutig zahlreicher vorhanden sind. Ferner fällt die unterschiedliche Strukturierung der Granula im Winter und Sommer auf. Den elektronendichten, unregelmäßig großen, vor allem aber relativ kleineren Granula stehen die größeren, helleren und homogen strukturierten Körnchen im Sommer gegenüber. Die größere Granuladichte im Winter deutet auf dichtere Packung ihres Inhaltes als im Sommer. Die ungleichmäßige Größe der Granula im Winter sowie der Wechsel dunkler und heller Zonen könnten Ausdruck einer Schrumpfung ihres Inhalts sein. Die Granula mit den konzentrischen hellen und dunklen Ringen zeigen möglicherweise auch Alterungs- und Degenerationsvorgänge an. Das Gesamtverhalten der

Granula im Winter spricht für ihre Stapelung in den Drüsenzellen, d. h. verminderte Abgabe in den Verdauungstrakt. Die kleinere Zahl der lockerer strukturierten Granula im Sommer (die im Lichtmikroskop teils hell, teils dunkel erscheinen), wird im Sinne einer verstärkten Sekretionstätigkeit im Sommer interpretiert. Ergastoplasma, Golgiapparat und Mitochondrien der Azinuszellen zeigen jedoch im Winter und Sommer keine wesentlichen Unterschiede, so daß mit einer gleichmäßigen Bildung von Granula gerechnet werden muß, die aber offenbar in geringerem Umfang abgegeben werden. Die mukösen Gangzellen sind im Sommer deutlich aktiver als im Winter. Deshalb dürfte im Sommer eine vermehrte Schleimbildung und -abgabe vorliegen. Die histochemische Untersuchung zeigt, daß in den Azinuszellen alle untersuchten Enzyme im Winter eine verminderte Aktivität besitzen, was — trotz fehlender Unterschiede in der Ultrastruktur — auf eine Einschränkung des Stoffwechsels deutet. Die Tatsache, daß die saure Phosphatase im Winter nicht zunimmt, spricht dafür, daß zu dieser Jahreszeit Abbauvorgänge nicht vermehrt auftreten.

2. Magen-Fundusdrüsen

Das histologische Gesamtbild der Fundusschleimhaut verändert sich während der verschiedenen Jahreszeiten nicht. Die Angaben ROLETTs (1871), wonach bei winterschlafenden Fledermäusen die Belegzellen größtenteils verschwinden, können wir ebenso wenig wie MONTI und MONTI (1902) (Murmeltier), CORTI (1903) (Fledermaus) und CARLIER (1893) (Igel) nicht bestätigen.

Im vorliegenden Material zeigten die Hauptzellen die auffallendsten strukturellen Unterschiede während der verschiedenen Jahreszeiten, die insbesondere die Granulazahl, Granulastruktur und die Menge der anderen Zellorganellen betreffen. Die Granulazahl ist im Sommer in allen Zellen viel höher als im Winter, wo sie nicht nur allgemein niedrig ist, sondern auch in den einzelnen Zellen stark variiert. Die Granula sind im Winter gleichmäßig, im Sommer dagegen unterschiedlich elektronendicht und meist heller mit zum Teil dunklem Zentrum. Rauhes Ergastoplasma und Golgiapparat sind im Sommer umfangreicher als im Winter. Die Kerne zeigen auch Unterschiede, besonders der Nucleolus ist im Sommer stets größer; die Kernmatrix erscheint jedoch im Winter oft heller als im Sommer. Die ultrastrukturellen Unterschiede zwischen Sommer- und Wintertieren deuten auf herabgesetzte Syntheseprozesse der Hauptzellen mit verminderter Bildung und Abgabe von Granula im Winter. Der helle Kern jedoch bildet eine Ausnahme dieser offenbaren Aktivitätsherabminderung, da das helle Chromatin (Euchromatin) i. a. als Ausdruck aktiver Gene angesehen wird.

In den Drüsenzellen der Parotis und des Magens zeigt sich also ein bemerkenswerter Unterschied im Verhalten der Granula im Winter, denn in der Parotis scheint nicht wie im Magen die Bildung der Granula im Winter wesentlich vermindert zu sein, sondern nur die Abgabe der Granula ins Drüsenlumen.

Die Belegzellen von Sommer- und Wintertieren weisen Unterschiede auf, die mit der Annahme einer erhöhten Aktivität im Sommer vereinbar sind. Vor allem zeigt sich dies im Auftreten weiltumiger Canaliculi und zahlreicher heller, kleiner Bläschen in der Nähe der Canaliculi im Sommer. Bemerkenswert ist, daß im Winter mehr Lysosomen und freie Ribosomen als im Sommer vorhanden sind; erstere könnten ein Zeichen für verstärkte Abbauprozesse der Zellen im Winter sein. Auch die dunklen, geschrumpften Kerne vieler Belegzellen deuten auf eine Aktivitätsminderung dieser Zellen. Die beobachteten Veränderungen der Zellgestalt entsprechen den Angaben über Verkleinerung der Belegzellen anderer Säugetiere während des Winterschlafes (MONTI und MONTI 1902; CARLIER 1893; CORTI 1903).

Die Vermehrung der Nebenzellen und Mitosefiguren im Sommer deutet auf einen rascheren Verschleiß an Drüsenepithelzellen zu dieser Jahreszeit. Diese Vermutung

bedarf jedoch der Bestätigung durch autoradiographische Untersuchungen. Für eine verminderte Aktivität der Magenschleimhaut spricht auch das Verhalten der Enzyme, die auch im Magenepithel im Winter in herabgesetzter Intensität nachweisbar sind.

3. Exokrines Pankreas

ODAR (1955) beschreibt umfangreiche Umbauvorgänge des exokrinen Gewebes vom winterschlafenden Siebenschläfer. Anhaltspunkte für solche Umstrukturierungen fanden wir beim Igel nicht. In den Drüsenzellen des Pankreas sind Granulazahl und Granulastruktur im Sommer und Winter sehr unterschiedlich, und zwar sind die Zymogengranula im Sommer zahlreicher als im Winter vorhanden. Im Winter sind die Granula homogen strukturiert, aber kleiner als im Sommer, wo auch — wie in den Hauptzellen des Magens — vereinzelte Granula ein dichtes Zentrum mit einer hellen „Rinde“ aufweisen. Die Mitochondrienzahl ist im Sommer deutlich höher als im Winter. Ferner treten im Winter oft unregelmäßig gestaltete Mitochondrien auf, z. T. mit Degenerationserscheinungen. Wie im braunen Fett winterschlafender Nager (NAPOLITANO u. FAWCETT 1958) und Igel (BARGMANN, LINDNER, v. HEHN 1968) wurden in den Mitochondrien Kristalle angetroffen, die vermutlich Eiweißkristallen und Cytochromen entsprechen. Im Winter sind auch oftmals umfangreiche funktionelle Endstadien sekundärer Lysosomen im Zytoplasma vorhanden.

Die Veränderungen der Granula, der Mitochondrien und das Auftreten der Abbaukörper sprechen für eine Einschränkung der Aktivität und z. T. für eine Degeneration der Drüsenzellen im Winter. Die hellen Vakuolen im Zytoplasma der Drüsenzellen von Wintertieren dürften wohl den hellen Vakuolen in den Abbaukörpern entsprechen, die im elektronenmikroskopischen Bild erscheinen. Der Golgiapparat und der Kern zeigen auch Unterschiede, die eine Erhöhung der Aktivität im Sommer annehmen lassen (größerer Nucleolus, mehr und oft stark erweiterte Golgizisternen).

Rauhes Ergastoplasma ist sowohl im Sommer als auch im Winter reichlich vorhanden. Im Winter sind die Zisternen des Ergastoplasmas jedoch oft stark erweitert, was für eine herabgesetzte Proteinsynthese und eine Degeneration sprechen dürfte, da u. a. Reste von Ergastoplasmalamellen in Residualkörpern (NOVIKOFF u. HOLTZMAN 1971) auftreten. Die histochemischen Untersuchungen ergeben auch im Pankreas eine Abnahme der Enzymaktivität im Winter.

Im Pankreas der Frösche (GEUZE und POOT 1969; GEUZE 1970; KOMAROMY et al. 1967) sind während der Winterruhe zwei verschiedene Drüsenzellen, die als dunkel und hell bezeichnet sind, beschrieben worden, während im Sommer nur dunkle Zellen vorhanden sind. Bei Igeln erscheinen alle Drüsenzellen im Pankreas gleich dunkel, auch im Winter, so daß der am Frosch erhobene Befund für den Igel nicht zutrifft.

4. Dünndarm

Das resorbierende Dünndarmepithel von Sommer- und Wintertieren zeigt einige geringe Unterschiede, die u. a. die Zellhöhe, die Mikrovilli, die Zahl der Mitochondrien und die Bläschenzahl im Zytoplasma, ferner die Kernstruktur betreffen. Die größere Zahl der Organellen beim Sommerigel spricht nach unserer Auffassung für eine größere Tätigkeit der Zellen. Da aber die Igel im Winter über längere Zeit keine Nahrung zu sich nehmen, ist bemerkenswert, daß die Epithelzellen im Winter kaum Veränderungen ihrer Ultrastruktur aufweisen. Die Bedeutung der hellen Zone unter dem Villisaum bei Winterigeln, die bei anderen Säugern öfter vorkommt (FAWCETT 1966), ist unklar. Interessant ist auch die Vermehrung von freien Ribosomen und Lysosomen im Zytoplasma bei Sommertieren. Erstere deuten auf eine vermehrte Proteinsynthese (u. U. von Enzymen). Die Lysosomen können in Verbindung mit

der Fettresorption stehen, die im Winter offenbar herabgesetzt ist. Die im Sommer regelmäßig vorhandenen Glykogen- und Fetteinschlüsse im Zytoplasma fehlen im Winter weitgehend. Zusammenfassend kann man sagen, daß die Zellen im Winter kaum Anzeichen einer Degeneration zeigen, doch scheint ihre Stoffwechselfähigkeit u. a. auf Grund leicht verminderter Hydrolasenaktivität im Winter etwas herabgesetzt zu sein.

Wie beim Murmeltier (MONTI 1903) und bei Fledermäusen (MATHIS 1928) zeigen die Panethschen Körnerzellen des Igels im Winter kaum strukturelle Veränderungen.

Die Feinstruktur der Lamina propria ist nach elektronenmikroskopischen Beobachtungen im Sommer und Winter sehr unterschiedlich und gibt Anlaß zu mehreren Überlegungen. Im Winter sind in der Lamina propria Mastzellen und eosinophile Granulozyten vermehrt vorhanden. Besonders die Mastzellen zeigen im Winter eine etwas höhere Aktivität als im Sommer (vermehrte Granulazahl, umfangreicheres Golgifeldd, ausgedehnteres rauhes E. R.). In eosinophilen Granulozyten treten im Winter nicht nur z. T. sehr große kristalloide Granula auf, sondern auch einzelne Fetteinschlüsse. Auch die Plasmazellen zeigen im Winter stärkere Aktivität (stark erweiterte E. R.-Zisternen mit feingranulärem Inhalt) als im Sommer, d. h. sie bilden wahrscheinlich vermehrt Antikörper. Weiterhin fällt auf, daß in der Lamina propria von Winterigeln zahlreiche andere fetthaltige Zellen vorhanden sind. Diese Zellen, die im Sommer kaum auftreten, entsprechen reticulären Zellen, Fibrozyten und Granulozyten. Die hellen Fetteinschlüsse enthalten vermutlich gesättigte Fettsäuren. Uns scheint folgende Interpretation dieser Befunde möglich zu sein: Der Erhöhung der Zahl von Eosinophilen und sehr aktiven Plasmazellen liegt vermutlich vermehrte Ag-Ak-Reaktion im Winter zugrunde (ARCHER 1963; KELLER 1966). Diese Annahme steht im Einklang mit der Tatsache, daß das lymphatische Gewebe während des Winterschlafs umfangreicher ist als im Sommer (ROEMER 1932). Im Gegensatz dazu stehen allerdings die Angaben MONTIS (1903), wonach die Zellvermehrung in den Lymphfollikeln der Darmwand beim Murmeltier während des Winterschlafs unterbrochen ist.

Das Auftreten zahlreicher Mastzellen, die im vorliegenden Material vor allem im Darmbereich gefunden wurden, kann ebenfalls mit einer Verstärkung der Immunreaktionen in Zusammenhang gebracht werden. Da aber Mastzellen u. a. sowohl Histamin als auch Heparin enthalten, ist auch an Mechanismen zu denken, in denen Heparin eine wichtige Rolle spielt; so ist bekannt, daß während des Winterschlafes die Blutgerinnung verzögert abläuft. Einer derartigen Deutung entspricht die lichtmikroskopische Beobachtung SUOMALAINENS (1951), wonach die Zahl von Mastzellen in verschiedenen Geweben des winterschlafenden Igels erhöht ist, eine Angabe, die wir bestätigen können. Die Ultrastruktur dieser Zellen erscheint jedoch im Sommer und Winter wenig verändert; es handelt sich in erster Linie um eine Vermehrung der Zellen. Die Gerinnungsverzögerung im Winter, die von SUOMALAINEN und LETHO (1952) beobachtet und zum großen Teil auf das Heparin der Mastzellen zurückgeführt wurde, ist wichtig wegen der erhöhten Thrombosegefahr während des Winterschlafes und der herabgesetzten Viskosität des Blutes, die im Winter nötig zu sein scheint, um die Nierenfunktion im Winter zu gewährleisten.

Aus Untersuchungen von KAYSER (1950), HERTER (1956) und SUOMALAINEN (1935) geht hervor, daß der Stoffwechsel im Winterschlaf mit einem sehr niedrigen Q-R-Koeffizienten einhergeht. Hierfür spricht auch, daß die Energiebildung weitgehend durch Verbrennung von Fett erfolgt. Da Heparin ein Klärfaktor für Chylomikronen im Plasma ist, ist dieses Mucopolysaccharid bei der Verwertung von Fett unentbehrlich. Die vielen fetthaltigen Zellen in der Lamina propria könnten neben dem braunen Fettgewebe Energielieferanten sein. Allerdings bleibt diese Erklärung der Heparinbedeutung vorläufig hypothetisch.

Zusammenfassung

Der Verdauungstrakt mit seinen exokrinen Anhangdrüsen wurde bei winterschlafenden Igel (*Erinaceus europaeus*) enzymhistochemisch und elektronenmikroskopisch untersucht und mit dem Verdauungstrakt von Sommertieren verglichen.

Hydrolytische Enzyme (saure Phosphatase, unspezifische Esterasen, Cholinesterase, β -Glucosaminidase, alkalische Phosphatase und Aminopeptidase) zeigen vor allem in den Drüsenepithelien (Parotis, Pankreas) und im resorbierenden Epithel des Magens und Dünndarms einen leichten Aktivitätsrückgang im Winter. Die Veränderungen im Enzymgehalt sind jedoch in den einzelnen Organabschnitten nicht immer gleichsinnig, z. B. in der Parotis nimmt die saure Phosphatase im Winter nur in den Drüsenazini ab, nicht aber im Gangepithel.

In der Parotis nimmt im Winter die Zahl der Sekretionsgranula zu, ihr Inhalt wird in vielen Fällen sehr elektronendicht. Außerdem treten in vielen Granula abwechselnd helle und dunkle Zonen auf. Die intralobulären Ausführungsgänge besitzen im Winter ein niedriges Epithel und enthalten wenig Schleimeinschlüsse.

In den basalen Anteilen der Fundusdrüsen im Magen verändern sich im Winter vor allem die Hauptzellen, deren Granulazahl stark abnimmt. Die Granula selbst sind im Winter sehr dicht (im Sommer meist locker strukturiert). In den Belegzellen nimmt im Winter die Zahl der in der Nähe der Canaliculi gelegenen hellen Vesikel ab.

In den Azinuszellen des exokrinen Pankreas nimmt die Zahl der Granula im Winter ebenfalls ab. Auffallend sind weiterhin eine Abnahme der Mitochondrienzahl sowie degenerative Veränderungen (vor allem Myelinfiguren) dieser Organellen. Typisch sind auch umfangreiche Abbaukörper, die z. T. große Vakuolen enthalten.

Das Dünndarmepithel zeigt nur leichte Veränderungen beim winterschlafenden Tier (z. B. ist die Lysosomenzahl verringert). Auffallend dagegen sind die Veränderungen in der Lamina propria. Die Zahl der Mastzellen und Eosinophilen nimmt stark zu, die Plasmazellen erscheinen stark aktiviert, und viele Fibrozyten und andere Zellen enthalten Fettein-schlüsse.

Summary

Light- and electron microscopical and enzyme histochemical observations on the alimentary tract of hibernating hedgehogs (Erinaceus europaeus)

The alimentary tract including its large exocrine glands has been investigated in hibernating hedgehogs (*Erinaceus europaeus*) with enzyme histochemical methods and with the electron microscope. The state of the winter animals has been compared with summer animals.

Hydrolytic enzymes (acid phosphatase, β -glucoaminidase, unspecific esterases, cholinesterase, alkaline phosphatase and aminopeptidase) exhibit in general a slight decrease of activity in the acinar epithelia of parotis and pancreas and in the resorptive epithelia of stomach and small bowel during hibernation. However, the changes in enzyme activity in one organ are not always uniform, e. g. the parotis acid phosphatase is in the acinar cells less active in winter than in summer, whereas the intralobular duct epithelium does not change its activity.

In the parotis the number of the secretion granules increases in winter, their contents becomes comparatively electron dense; the contents of a number of granules exhibits concentric light and dark zones. The epithelium of the intralobular ducts is reduced in size and mucous inclusion bodies.

In the basal parts of the fundic glands of the stomach it is above all the chief cells which undergo changes: Their granule number decreases markedly and the granules themselves are more electrondense than in the summer. In the parietal cells the number of vesicles which are located near the canaliculi, decreases in winter.

In the exocrine pancreas the granule number also decreases in winter. Striking is further on a diminution of the mitochondrion population as well as degenerative changes (myelin figures) in these organelles. Characteristical are also big inclusion bodies which frequently contain vacuoles.

The small gut surface-epithelium shows only minor ultrastructural changes. However, the underlying lamina propria exhibits differences in number and activity of its free cells. The mast cell and eosinophil number increases, the plasma cells appear to be activated, the fibrocytes and other cells frequently contain huge lipid inclusions.

Literatur

- CORTI, A. (1907): Granulazioni e fatti morfocinetici delle cellule mononucleate migranti nell'epitelio del villo intestinale di mammiferi. *Biologica* 1, 1—27; Torino, zit. nach V. PATZELT: *Der Darm*. In: *Handbuch der Mikroskop. Anatomie d. Menschen* V, 3. Hrsrg. von W. v. MÖLLENDORF. Springer, Berlin (1936).

- FAWCETT, D. (1966): Atlas of fine Structure. Saunders, Philadelphia.
- GEUZE, J. J.; POOST, C. (1969): The effect of temperature elevation and feeding on the pancreas of *Rana esculenta* in late winter. Z. Zellforsch. 98, 1—8.
- GEUZE, J. J. (1970): Light and electron microscope observations on auto- and heterophagy in the exocrine pancreas of the hibernation frog (*Rana esculenta*). J. ultrastructure research 32, 391—404.
- GOMORI, G. (1952): Microscopic histochemistry. Principles and practice, 148 pp. Chicago: University Press.
- HELANDER, H. F. (1962): Ultrastructure of fundus glands in the mouse gastric mucosa. J. ultrastructure research, Suppl. 4, 1—123.
- HERTER, K. (1956): Winterschlaf. Handbuch der Zoologie 8, 1—60.
- HOLT, S. J. (1958): Indigonic staining methods for esterases. General cytochemical methods, vol. 1, 375—398.
- MC. KATER, J. (1927): Nuclear Structure in active and hibernating Frogs. Z. f. Zellforsch. u. mikr. Anatomie 5, 263—277.
- KAYSER, CH. (1950): Lethargie hibernale des mammifères. Mammalia 14, 105—125.
- KELLER, R. (1966): Tissue mast cells in immune reactions. Monographs in allergy, vol. 2, American elsevier publishing company, inc. New York.
- KOMAROMY, L.; MOUTSKÓ, T.; TIGYI, A.; LISSÁK, K. (1967): Light and electron microscopy studies of the acinar cells of the pancreas after fasting and feeding. Acta physiol. Acad. sci. hung. 31, 209—216.
- LAZARUS, S. S.; VOLK, B. W.; BARDEN, H. (1965): Localisation of acid phosphatase activity and secretion mechanism in rabbit Pancreatic B-cells. J. Histochem. Cytochem. 14, 233—246.
- MATHIS, J. (1928): Über die Brunnerschen Drüsen und die Körnchenzellen einiger Fledermäuse. Anat. Anz. 65, 1—17.
- MAYER, W. v.; BERNICK, S. (1958): Comparative histological studies of the stomach, small intestine, and colon of warm and active and hibernating arctic ground squirrels, *Spermophilus undulatus*. Anat. Rec. 103, 747—757.
- MONTI, R.; MONTI, A. (1902): Le glandole gastriche delle marmotte durante il letargo invernale e l'atti vita estiva. Ric. Labor. Anat. norm. Univ. Roma 9, 2/3, 25, zit. nach H. PLENK: Der Magen. In: Handbuch d. Mikrosk. Anatomie d. Menschen V, 2. Hrsg. von W. v. MÖLLENDORFF. Springer, Berlin (1932).
- MONTI, R. (1903): La funzione di secrezione e di assorbimento intestinale studiate negli animale ibernanti. Mem. letta al R. inst. Lomb. Pavia, zit. nach V. PATZELT: Der Darm. In: Handbuch der Mikrosk. Anatomie d. Menschen V, 3. Hsg. von W. v. MÖLLENDORFF. Springer, Berlin (1936).
- NOVIKOFF, A.; HOLTZMANN, PH. (1970): Cells and Organelles. Holt, Rinehart and Winston, Inc., New York.
- ODAR, I. (1955): Vergleichende Untersuchungen über Inselorgan und Leber von Siebenschläfern im Wach- und Schlafzustande. Z. Zellforsch. 41, 351—360.
- PUGH, D.; WALKER, P. G. (1958): Histochemical localisation of β -glucosaminidase. J. Histochem. Cytochem. 9, 105—106.
- REYNOLDS, E. S. (1963): The use of lead citrate at high pH and an electron opaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol. 17, 208—212.
- RICHARDSON, K. C.; JARRET, L.; FINKE, E. (1960): Embedding in epoxyresins for ultrathin sectioning in electron microscopy, Stain Technol. 35, 313—323.
- ROEMER, H. (1932): Lymphknoten des Igels. Z. Anat. Entw.-gesch. 99, 492—512.
- ROLLETT, A. (1871): Bemerkungen zur Kenntnis der Labdrüsen und der Magenschleimhaut, Unters. Inst. Physiol. Histol. Graz, H. Z., 142—194. Leipzig: Wilh. Engelmann, zit. nach H. PLENK: Der Magen. In: Handbuch der Mikrosk. Anatomie d. Menschen V, 2. Hrsg. von W. v. MÖLLENDORFF. Springer, Berlin (1932).
- SMITH, R. E. (1963): Acid phosphatase activity of rat adenohypophysis during secretion. 3. Ann. Meet. Amer. Soc. Cell. Biol. 1963; abstr. J. Cell. Biol. 19, 66 A.
- SMITH, R. E.; FARQUHAR, M. G. (1966): Lysosome function in the regulation of the secretory process in cells of the anterior pituitary gland. J. Cell. Biol. 31, 319—347.
- SUOMALAINEN, P. (1935): Winterschlaf des Igels und Enzymtätigkeit. Ann. Acad. sc. Fenn. Ser. A, 45, Nr. 2, 1—115.
- (1951): Heparinocytes and hibernation. Exper. 7, 380.
- SUOMALAINEN, P.; LETHO, E. (1952): Clotting time in the hibernating hedgehog. Arch. Soc. Zool.-bot. Fenn. 6, 94—96.
- WIGGLESWORTH, V. B. (1967): Cytological changes in the fat body of *Rhodnius* during starvation, feeding and oxygen want. J. Cell. Sci. 2, 243—256.